

小鼠单核巨噬细胞白血病细胞RAW264.7

Cat No.:JY032



Description

种属	小鼠
别称	RAW264; RAW2647; RAW264.7; RAW-264.7; Raw 264.7; Raw264.7
组织来源	Abelson鼠科白血病病毒诱导的肿瘤；单核细胞；巨噬细胞
疾病	Abelson鼠白血病病毒诱导的肿瘤
传代比例/细胞消化	1：2-1:3传代，该细胞传代时不需要用胰酶消化
完全培养基配置	DMEM培养基；10%胎牛血清；1%双抗
简介	该细胞株源自BALB/c小鼠由Abelson鼠科白血病病毒诱导的肿瘤。可产生溶菌酶；sIg-，Ia-，Thy-1.2-。为检测到病毒颗粒的分泌，XC斑点形成试验阴性。该细胞可以胞饮中性红并吞噬乳胶颗粒与酵母聚糖；可以经抗体依赖分裂绵羊红细胞与肿瘤靶细胞；LPS或PPD处理2天可诱导分裂红细胞，但对肿瘤靶细胞无作用。
形态	不规则圆形
生长特征	贴壁生长
倍增时间	~24h
基因表达	lysozyme, H-2d; Tested and found negative for ectromelia virus (mousepox).
抗体表达	H-2d
受体表达	complement (C3)
培养条件	气相：空气，95%；二氧化碳，5%。 温度：37摄氏度，培养箱湿度为70%-80%。
冻存条件	冻存液：90%FBS，DMSO 10%， 或使用非程序冻存液：官网货号JY-H040
保藏机构	ATCC; TIB-71
备注	建议该细胞传代时不用胰酶消化
产品使用	仅限于科学研究，不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

细胞接收处理流程：

- 1：观察有无破损漏液情况，如有请拍照及时联系客服。
- 2：酒精消毒培养瓶表面后显微镜下观察细胞状态，观察拍照后不用打开培养瓶盖 放入培养箱静止2-3小时稳定 细胞状态。
- 3：请按照细胞操作指南进行第一次传代冻存处理。
- 4：产品随货会附带细胞说明书、细胞培养操作指南、细胞鉴定、支原体检测报告。
- 5：若产品有异常或其他疑问，可随时联系客服；转至技术支持。

RAW264.7 培养注意事项

常见问题：

- 1.该细胞对培养基及血清的质量要求较高，其中任何一个质量不好都会导致后续培养过程中细胞的分化，特别是传 3、4 代以后细胞容易出现分化，细胞变大，贴壁较紧，呈典型“摊鸡蛋”样；
- 2.该细胞在传代或复苏后，刚贴壁时会有短小的突触，但细胞胞体还是呈圆形或近圆形；待细胞培养 2-3 天后，短小突触会消失；
- 3.如果用胰酶消化，经验不足时，极易导致后续细胞形态的改变，也不容易将细胞消化下来；
- 4.如果用细胞刮将细胞刮下来，容易导致大量细胞死亡和细胞形态的改变，也不容易分散为单细胞；
- 5.该细胞不管在任何密度下，只要是更换了新鲜培养基后紧接着进行吹打，细胞会很难从培养瓶壁上脱落。

推荐的传代方法有以下两种：

方法一：该细胞在细胞密度较大，培养基较黄时，不要去除旧培养基，用移液管直接对培养瓶壁上的细胞进行吹打，使细胞从壁上脱落。细胞脱落后可加入新鲜的完全培养基混匀后分瓶；也可收集培养瓶中的细胞悬液，离心后，弃上清，再用新鲜的完全培养基重悬细胞后分瓶，进行培养。这种方法容易出现的问题是，如果操作者经验不足，可能导致部分细胞无法脱落。

方法二：细胞密度达到 80~90%，需要进行传代时，可在培养瓶中的原培养基中滴加 1~2 滴无菌的 HEPES 缓冲液（视培养瓶中培养基的

贴壁细胞

贴壁细胞接收后的处理

- 1) 收到细胞后，75%酒精消毒瓶壁将T25瓶置于37°C培养箱放置约2-4h，若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染，请拍照后及时联系我们
- 2) 静置完成后，请在显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照（10×，20×）各2-3张以及培养瓶外观照片一张留存，作为售后时收到时细胞状态的依据。

贴壁细胞：细胞在37°C培养箱中放置2-3h，显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况，有些贴壁细胞在快递运送过程中会因振动脱落和脱落后成团的情况。若镜下观察细胞的生长密度若在60%以下，可去除培养瓶中灌液培养基（若有未贴壁的细胞需要离心回收，重悬打入到原培养瓶中），加入新配制的完全培养基6-8mL，放到细胞培养箱中继续培养。若细胞生长密度达70%-80%以上，可以对细胞进行传代处理。传代过程中，若因运输振动脱落的细胞需要离心回收。

备注：运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。收到细胞后第一次传代建议T25培养瓶1：2传代。

请扫描右侧二维码
观看操作视频





贴壁细胞收货注意事项以及传代



细胞复苏

贴壁细胞的复苏、传代、冻存步骤

● 贴壁细胞复苏：从液氮罐中或-80°C冰箱中查找到需要复苏的细胞，水浴锅提前打开预热 37°C。

- 1) 将含有1mL细胞悬液的冻存管在37°C水浴中迅速摇晃解冻；
- 2) 加入到含4-6mL完全培养基的离心管中混合均匀。
- 3) 弃去上清液，完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含6-8mL完全培养基接种于 T25 培养瓶中（或 6cm 皿中），培养过夜，第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

● 贴壁细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

- 1) 弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次；
- 2) 加 1-2mL 消化液（0.25%Trypsin-0.53mM EDTA）于培养瓶中，置于 37°C培养箱中消化 2-3min，然后在显微镜下观察细胞消化情况，若细胞大部分变圆并脱落，迅速拿回操作台，轻敲几下培养瓶后，加 5ml 以上含 10%血清的完全培养基终止消化；
- 3) 轻轻吹打细胞，完全脱落后吸出至离心管中，1000rpm离心3-5min，弃去上清液，补加1-2mL完全培养基后吹匀；
- 4) 按 5-6mL/瓶补加完全培养基，将细胞悬液按 1:2 到 1:3 的比例分到新的含 6-8mL完全培养基的培养皿中或者培养瓶中。（首次传代两个T25或者两个6cm的皿）

● 贴壁细胞冻存：

- 1) 细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中，可使用血球计数板计数，来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml；
- 2) 1000rpm离心3-5min，去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞，按每1mL冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息；
- 3) 按冻存数量加入无血清冻存液后直接放-80°C冰箱过夜，后续可转入液氮罐中长期保存。

悬浮细胞

悬浮细胞接收后的处理

- 1) 收到细胞后，75%酒精消毒瓶壁将T25瓶置于37°C培养箱放置约2-4h，若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染，请拍照后及时联系我们
- 2) 静置完成后，请在显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照（10×，20×）各2-3张以及培养瓶外观照片一张留存，作为售后时收到时细胞状态的依据。

悬浮细胞：T25瓶置于37°C培养箱放置约2-3h，然后抽出瓶中的培养基和细胞1000rpm离心5分钟，弃去上清重悬后接种到新的培养瓶中。
（加入按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基）。

备注：运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。收到细胞后第一次传代建议T25培养瓶1：2传代。

请扫描右侧二维码
观看操作视频





悬浮细胞收货注意事项以及传代



细胞复苏

悬浮细胞的复苏、传代、冻存步骤

● 悬浮细胞复苏：从液氮罐中或-80°C冰箱中查找到需要复苏的细胞，水浴锅提前打开预热 37°C。

1. 复苏细胞：从液氮罐中或-80°C冰箱中查找到需要复苏的细胞，水浴锅提前打开预热 37°C；

- 1) 将含有1mL细胞悬液的冻存管在37°C水浴中迅速摇晃解冻；
- 2) 加入到含4-6mL完全培养基的离心管中混合均匀；
- 3) 弃去上清液，完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含6-8mL完全培养基接种于 T25 培养瓶中（或 6cm 皿中），培养过夜，第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

● 悬浮细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

方法一：将细胞悬液收集到离心管中1000rpm，离心5min，弃去上清，补加1-2mL培养液后重悬混匀后将细胞悬液按1：2的比例分到新T25瓶中，添加6-8mL按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力。

方法二：1) 半换液处理，竖着培养瓶在培养箱静置 10-20min 左右，肉眼可见大部分细胞沉在底部；

2) 轻轻吸掉 3ml 左右培养基，将剩余细胞悬起混匀；

3) 将细胞悬液按 1:2 到 1:3 的比例分到新的含 5-6 mL 完全培养基的培养皿中或者培养瓶中，一般这样传代 3 次左右可以离心传代一次

● 悬浮细胞冻存：

1) 收集瓶内所有细胞悬液吸至离心管，如悬浮细胞贴壁需要把贴壁的细胞吹下来一起收集离心，可使用血球计数板计数，来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml；

2) 1000rpm离心3-5min，去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞，按每1mL冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息；

3) 按冻存数量加入无血清冻存液后直接放-80°C冰箱过夜，后续可转入液氮罐中长期保存。

半贴细胞和贴壁不牢（悬浮）细胞

半贴细胞和贴壁不牢（悬浮）细胞接收后的处理

- 1) 收到细胞后，75%酒精消毒瓶壁将T25瓶置于37℃培养箱放置约2-4h，若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染，请拍照后及时联系我们
- 2) 静置完成后，请在显微镜下确认细胞状态，同时给刚收到的细胞拍照（10×，20×）各2-3张以及培养瓶外观照片一张留存，作为售后时收到时细胞状态的依据。

半贴细胞和贴壁不牢（悬浮）细胞：T25瓶置于37℃培养箱中约2-3h，显微镜下观察细胞的情况，若细胞密度在60%以下，客户需收集T25瓶中的悬浮细胞离心后用完全培养基重悬后打回到原培养瓶中继续培养，若细胞生长70%-90%对细胞进行传代，传代时需要收集培养基中悬浮的细胞离心后回收。

备注：运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。收到细胞后第一次传代建议T25培养瓶1：2传代。

半贴细胞和贴壁不牢（悬浮）细胞的复苏、传代、冻存步骤

● 复苏细胞：从液氮罐中或-80℃冰箱中查找到需要复苏的细胞，水浴锅提前打开预热 37℃。

- 1) 将含有1mL细胞悬液的冻存管在37℃水浴中迅速摇晃解冻；
 - 2) 加入到含4-6mL完全培养基的离心管中混合均匀；
 - 3) 弃去上清液，完全培养基重悬细胞。然后将细胞悬液加入含6-8mL完全培养基接种于 T25 培养瓶中（或 6cm 皿中），培养过夜，第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度；
2. 细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

请扫描右侧二维码观看操作视频



细胞复苏

● 细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

- 1) 将培养瓶中的悬浮的细胞收集到离心管中；
- 2) 贴壁细胞用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次，由于细胞贴壁不牢PBS润洗后细胞会脱落所以PBS也要回收离心管中；
- 3) 加 1-2mL 消化液（0.25%Trypsin-0.53mM EDTA）于培养瓶中，置于 37℃培养箱中消化 2-3min，然后在显微镜下观察细胞消化情况，若细胞大部分变圆并脱落，迅速拿回操作台，轻敲几下培养瓶后，加 5ml 以上含 10%血清的完全培养基终止消化；
- 3) 将收集到的悬浮细胞、pbs清洗液中的细胞和消化下来的贴壁细胞1000rpm离心5min，弃去上清，补加1-2mL培养液后重悬混匀后将细胞悬液按1：2的比例分到新T25瓶中，添加6-8ml按照说明书要求配置的新的完全培养基以保持细胞的生长活力。（即 1 个 T25 传代接种至 2~3 个 T25 或者 2~3 个直径为6cm 的培养皿）。

● 细胞冻存：

- 1) 细胞冻存时按照细胞传代的过程收集消化好的细胞到离心管中，可使用血球计数板计数，来决定细胞的冻存密度。一般细胞的推荐冻存密度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml；
- 2) 1000rpm离心3-5min，去掉上清。用配制好的细胞冻存液重悬细胞，按每1ml冻存液含 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个活细胞/ml分配到一个冻存管中将细胞分配到冻存管中，标注好名称、代数、日期等信息；
- 3) 按冻存数量加入无血清冻存液后直接放-80℃冰箱过夜，后续可转入液氮罐中长期保存。

体积适当可以增加 HEPES*的用量），作用 1~2min，使培养基 PH 变酸，培养基颜色变黄，直接用移液管进行吹打，这时细胞会很轻易脱落，并成单细胞。细胞脱落后可加入新鲜的完全培养基混匀后分瓶；也可收集培养瓶中的细胞悬液，离心后，弃上清，再用新鲜的完全培养基重悬细胞后分瓶，进行培养。

1：下为 ATCC 该细胞低密度与高密度图片，该细胞分化为不可逆状态，培养时，存在少量分化细胞，属于正常现象。传代时，应采取上述建议方法传代；如轻吹下来后，部分细胞吹落不下来可弃掉该部分细胞贴壁较牢，更容易加剧分化。：

2：该细胞正常倍增时间为 12-16 小时，培养时应注意密度，切勿生长过度，过度生长会导致细胞产生叠层使细胞较难吹落下来，用力吹打的物理伤害也会使细胞分化加剧。

ATCC Number: **TIB-71™**
Designation: **RAW 264.7**

